

P-02 脂肪蓄積関連遺伝子のエピジェネティックな抑制に基づく脂肪蓄積の抑制の検証

○井上 拓哉¹, 針谷 夏代², 久保田 健夫², 望月 和樹³

¹山梨大学・医学工学総合教育部・生命工学専攻, ²山梨大学大学院・医学工学総合研究部・医学部, ³山梨大学大学院・医学工学総合研究部・生命環境学部

＜概要＞ 妊娠期の栄養摂取不良は、胎児を低栄養状態に陥らせて肥満や 2 型糖尿病体質を獲得させることが知られている。この体質変化の背景に、低栄養状態に起因する DNA やヒストンタンパク質上の化学修飾（エピジェネティクス修飾）変化が存在することが明らかにされてきた。一方、演者らは、糖尿病の高血糖状態が転写開始点下流領域のヒストンタンパク質のアセチル化を誘導し、この領域に Brd4 タンパク質が結合することで、脂肪合成関連遺伝子の発現を上昇させ、糖尿病を進行させていることを明らかにした。従って、Brd4 を阻害することで、脂肪合成関連遺伝子の発現を抑制し、肥満や糖尿病の進行を食い止めることが可能と考え、Brd4-アセチル化ヒストンの結合阻害剤である JQ1 をマウス 3T3-L1 脂肪細胞に投与し、脂肪蓄積抑制効果を検証した。

＜方法＞ マウス 3T3-L1 脂肪細胞を 2 日間分化誘導培地（10% FBS DMEM 培地, 0.5 μ M IBMX, 2 μ M Dex., 1.74 μ M Insulin）によって培養した後に、10% FBS DMEM 培地にて 12 日間培養を行った。分化誘導終了後から培養終了時まで培地中に JQ1 を最終濃度が 0, 5, 10, 25, 50, 100 nM になるように添加した。培地交換は 2 日ごとに行った。分化誘導後 8 日目の細胞を Oil red O により染色し、細胞内の脂肪の蓄積を評価した。分化誘導後 0, 2, 4, 8, 12 日目の細胞を用いて定量 RT-PCR により脂肪分化関連遺伝子、脂肪酸合成関連遺伝子、中性脂肪蓄積関連遺伝子の発現量を測定した。

＜結果＞ 50 nM 以上の JQ1 を培地中に添加することによって、脂肪細胞における脂肪の蓄積が顕著に低下した。また、同濃度で PPAR γ 1、PPAR γ 2、ALBP（脂肪分化関連遺伝子）、FAS、ACC β （脂肪酸合成関連遺伝子）、LPL（中性脂肪蓄積関連遺伝子）の遺伝子発現量が顕著に低下した。

＜考案＞ 低濃度の JQ1 投与により脂肪細胞の脂肪蓄積関連遺伝子の発現量および脂肪蓄積量が抑制されることが判明した。これを受けて、今後は、クロマチン免疫沈降法を用い、JQ1 による Brd4 とアセチル化ヒストンとの結合阻害の詳細を明らかにし、さらに肥満モデル動物を使用した JQ1 の肥満抑制効果を検証していく予定である。